

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861533

研究課題名(和文) 腺様嚢胞癌における神経周囲浸潤を規定する分子メカニズムの解明

研究課題名(英文) Nerve growth factor signals as possible pathogenic biomarkers for perineural invasion in adenoid cystic carcinoma

研究代表者

小林 謙也 (kobayashi, kenya)

東京大学・医学部附属病院・特任研究医

研究者番号：80648311

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：腺様嚢胞癌における神経周囲浸潤は局所制御を低下させ、患者の予後を著しく低下させる。今回我々は、神経栄養因子(NGF)及び、Myb過剰発現/MYB-NFIB融合遺伝子の2点から神経周囲浸潤との関連性を解析した。

NGFとその受容体TrkAの発現程度が強いほど神経周囲浸潤が強く生じ、局所予後にも関与していた。NGF/TrkA系のシグナルが、神経周囲浸潤に関与することが示唆された。その一方で、Myb過剰発現/MYB-NFIB融合遺伝子の発現は神経周囲浸潤との関連性を認めなかった。

研究成果の概要(英文)：The molecular mechanisms underlying perineural invasion (PNI)—a characteristic pathological feature of adenoid cystic carcinoma (ACC)—remain largely unclear. Recently, nerve growth factor (NGF) has been implicated in PNI in certain malignancies. Overexpression of Myb related to the MYB-NFIB fusion gene in ACC has also been correlated with PNI and survival. The aim of this study was to examine the expression of NGF together with its receptors, tropomyosin receptor kinase A (TrkA) and p75NRT, and Myb in ACC and assess their relationship with PNI and survival. NGF, TrkA, p75NRT, Myb, and MYB-NFIB fusion gene overexpression rates were 65%, 65%, 30%, 62%, and 45%, respectively. Pearson product-moment correlation coefficient revealed a strong correlation between NGF/TrkA immunostaining and PNI. Moreover, NGF overexpression was significantly associated with worse 8-year local control rate. However, p75NRT, Myb, and MYB-NFIB fusion gene expression was related to neither PNI nor survival.

研究分野：頭頸部癌

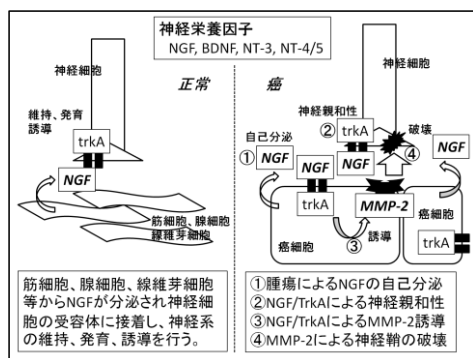
キーワード：腺様嚢胞癌 神経栄養因子 MYB MYB-NFIB融合遺伝子

1. 研究開始当初の背景

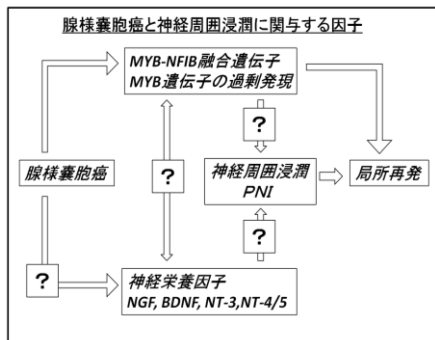
腺様嚢胞癌に特徴的な浸潤様式である神経周囲浸潤は局所制御率の低下を引き起こし、予後改善の大きな障害となっている。その浸潤機序は十分には分かっていないが、神経栄養因子は神経周囲浸潤の発現メカニズムに関与していると考えられている。

神経栄養因子は、正常生体内では、神経の標的となる筋細胞・腺細胞・線維芽細胞・Schwann 細胞等から分泌され、その受容体を介し神経系の発育、誘導、維持に関与している。一方で、膵癌・前立腺癌においては神経栄養因子が細胞増殖や組織浸潤、とりわけ神経周囲浸潤に強い関連を持つことが判明しつつある。

現在考えられている神経周囲浸潤のメカニズムとしては、腫瘍細胞において神経栄養因子と受容体の発現過剰が生じることで、腫瘍細胞増殖が起こり、さらに神経栄養因子が過剰発現することで、受容体を介し2次経路カスケードが刺激され、タンパク分解酵素である MMP-2 の活性化が起こり、細胞外基質と神経鞘の破壊を起こすと考えられている。



また、癌の根幹原因となる、癌遺伝子が他の遺伝子と融合することで、癌細胞の異常増殖が可能となる融合遺伝子の存在が固形癌においても同定されるようになり、腺様嚢胞癌においても、MYB-NFIB 融合遺伝子が報告された。しかしながら、これら融合遺伝子の発現と臨床病理学的な関連性は十分には明らかにはされていない。



2. 研究の目的

本研究により、腺様嚢胞癌における神経周囲浸潤と NGF を中心とした神経栄養因子及び受容体である TrkA 受容体、p75NRT 受容体の関係を明らかにし、加えて新規 MYB-NFIB 融合遺伝子、Myb 過剰発現との関係を解析することで、神経周囲浸潤の危険因子としてのバイオマーカーの確立を目的とし、治療における局所制御率と生存率の向上を目指した。

3. 研究の方法

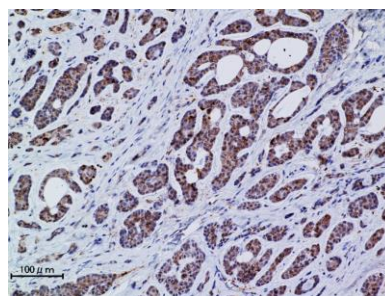
東京大学耳鼻咽喉科にて外科的治療を受けた頭頸部腺様嚢胞癌患者の FFPE37 検体を対象とした。

① 臨床検体を使用し、神経栄養因子の代表である NGF 及びその受容体である TrkA, p75NRT の免疫染色を施行し、発現率、神経周囲浸潤との関与、予後と相関を検討した。神経周囲浸潤の程度は 3 low power fields における平均神経周囲浸潤数で評価した。

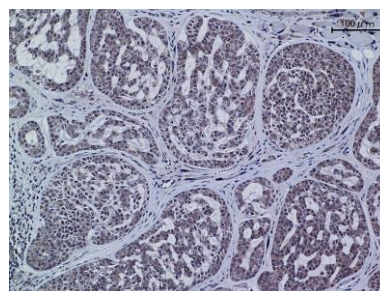
② 臨床検体を使用し、Myb の過剰発現、及び MYB-NFIB 融合遺伝子発現を免疫染色及び FISH にて検討し、発現率、神経周囲浸潤との関与、予後と相関を検討した。

4. 研究成果

① NGR, TrkA 受容体、p75NRT の発現率は各々 65%、65%、30%であった。NGF、TrkA 免疫染色陽性の写真を下図に示す。

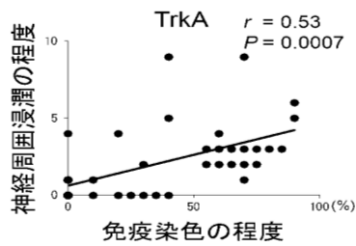
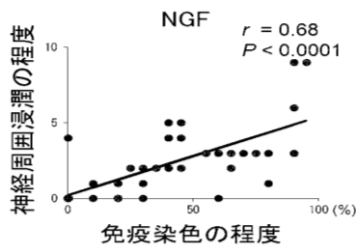


NGF 免疫染色

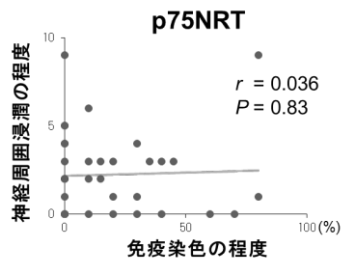


TrkA 免疫染色

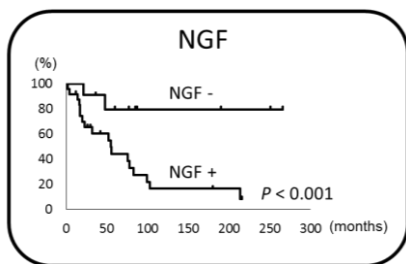
NGF 及び TrkA 受容体は発現程度が高いほど、神経周囲浸潤が強く生じ、統計学的に有意差を認めた（下図）。



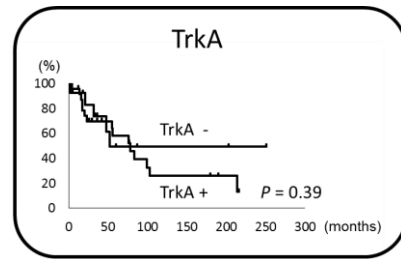
p75NRT 受容体においては、発現程度と神経周囲浸潤に相関は認めなかった。（下図）



さらに NGF が高発現している腫瘍では有意に 8 年局所制御率が低く、神経周囲浸潤を介して局所予後にも関与していることが示唆された。



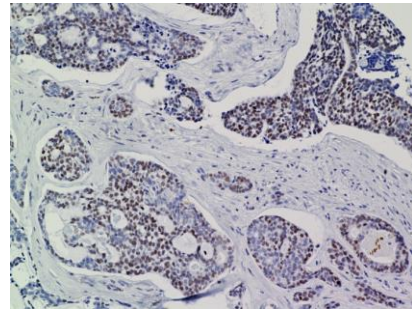
NGF と局所制御率の関係



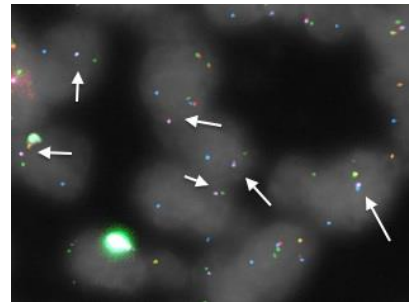
TrkA と局所制御率の関係

以上より NGF、TrkA 受容体の発現は神経周囲浸潤に強く関与することが示唆された。

- ② Myb および MYB-NFIB 融合遺伝子の過剰発現はそれぞれ 62%、45%であった。免疫染色及び FISH 陽性写真を下図に示す。



Myb 免疫染色



MYB-NFIB 融合遺伝子

Myb 陽性症例では、有意差をもって MYB-NFIB 融合遺伝子が発現していた。しかしながら、Myb 及び、MYB-NFIB 融合遺伝子の過剰発現と神経周囲浸潤、その他の臨床病理学的因子、予後との相関は認められなかった。

今後さらなる検討が必要であるが Myb および MYB-NFIB 融合遺伝子の発現と神経周囲浸潤には明らかな相関は認められなかった。

本件研究において、NGF/TrkA 系のシグナルが神経周囲浸潤に深く関与することが示唆された。一方で、p75NRT、Myb、MYB-NFIB 融合遺伝子の発現は、神経周囲浸潤との関連性を認めなかった。

今後 NGF/TrkA 系シグナルの解析を続け、神経周囲浸潤のメカニズムの更なる解明を行いたいと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

Kobayashi K, Ando M, Saito Y, Kondo K, Omura G, Shinozaki-Ushiku A, Fukayama M, Asakage T, Yamasoba T. Nerve Growth Factor Signals as Possible Pathogenic Biomarkers for Perineural Invasion in Adenoid Cystic Carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2015 ;153(2):218-224. 査読あり

Kobayashi K, Saito Y, Omura G, Ando M, Sakamoto T, Yamasoba T, Akakage T. Clinical features of human papilloma virus-related head and neck squamous cell carcinoma of an unknown primary site. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 2014;76(3):137-146. 査読あり

Kobayashi K, Takenouchi S, Mitani H, Yoshida T. Recurrence Pattern after conservative surgery for papillary thyroid carcinoma. *Auris Nasus Larynx.* 2014;41(6):548-551. 査読あり

Kobayashi K, Nakao K, Kishishita S, Tamaruya N, Monobe H, Saito K, Kihara A. Vascular malformations of the head and Neck. *Auris Nasus Larynx.* 2013;40(1):89-92. 査読あり

[学会発表] (計 9 件)

原発不明癌における p16 過剰発現の検討 小林謙也 他 第 37 回頭頸部癌学会 2013/6/13-6/14 東京.

p16 and HPV DNA status in head and neck squamous cell carcinoma of an unknown primary site. Kenya Kobayashi et.al. 2013/9/29-10/2 AAO-HNSCF Vancouver.

腺様嚢胞癌における神経周囲浸潤を神経栄

養因子の関係 小林謙也 他 第 24 回日本頭頸部外科学会 2014/1/30-31 高松.

当科における腺様嚢胞癌の臨床検討 MYB 過剰発現と予後の関係 小林謙也 他 第 38 回頭頸部癌学会 2014/6/12-13 東京.

Pathogenic biomarkers for perineural invasion in adenoid cystic carcinoma. Kenya Kobayashi et.al. 2014/9/21-24 AAO-HNSCF Orland FL.

当科で手術加療を行った頭頸部横紋筋肉腫の臨床検討 小林謙也 他 2015/1/29-1/30 第 25 回日本頭頸部外科学会 大阪

Treatment outcomes after orbital preservation surgery for cancers with orbital invasion. Kenya Kobayashi et.al. 2015/6/3-6/5 第 39 回頭頸部癌学会 第 4 回アジア頭頸部癌学会 神戸

下顎骨浸潤を伴う口腔扁平上皮癌の臨床病理学的検討 小林謙也 他 第 26 回日本頭頸部外科学会 2016/1/28-1/29 名古屋

Significance of surgery for head and neck sarcoma with skull base invasion. Kenya Kobayashi. et.al. World Federation of Skull Base Societies. 2016/6/14-6/17 大阪

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 謙也 (KOBAYASHI Kenya)

東京大学・医学部附属病院 特任研究医
研究者番号：80648311

(2) 研究協力者

安藤 瑞生 (ANDO, Mizuo)

近藤 健二 (KONDO, Kenji)

山嵜 達也 (YAMASOBA, Tatsuya)

朝蔭 孝宏 (ASAKAGE, Takahiro)

齊藤 祐毅 (SAITO, Yuki)

小村 豪 (OMURA, Go)
